

Article

유칼립투스 추출물의 *Propionibacterium acnes*에 의해 유도되는 염증반응 억제 효과

이슬지^{1†} · 이은혜^{1†} · 신진학¹ · 김선숙¹ · 김남경² · 최은미² · 서수련^{1*}

¹강원대학교 분자생명과학과, ²(주)그린솔루션스

Eucalyptus globulus extracts inhibit *Propionibacterium acnes*-induced inflammation signaling

Sol Ji Lee^{1†}, Eun Hye Lee^{1†}, Jin Hak Shin¹, Seon Sook Kim¹, Nam Kyoung Kim², Eunmi Choi², and Su Ryeon Seo^{1*}

¹Department of Molecular Bioscience, College of Biomedical Science, Institute of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

²R&D Center, Greensolutions Co., Ltd., Room 207, Bioindustry Innovation Center, Chuncheon 24232, Republic of Korea

(Received November 21, 2016; Revised December 20, 2016; Accepted December 21, 2016)

ABSTRACT: Acne is known as the most common skin disease. It commonly occurs during adolescents, but it is also present in children and adults because of air pollution, drug abuse and so on. In addition to the hormonal, genetic and environmental factors, *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) have also critical roles in outbreak of acne by inducing inflammatory mediators. Increase of sebum production provides an ideal environment for *P. acnes* that induce inflammation on the skin by activation of monocytic cells and stimulation of inflammatory cytokines. In this study, natural extracts were investigated for anti-inflammatory effects against inflammatory acne by *P. acnes* infection in terms of reducing cytokine production. *Eucalyptus globulus* extracts effectively suppressed mRNA synthesis of inflammatory mediators such as TNF- α , IL-1 β , IL-2, and NLRP3 in *P. acnes*-activated macrophages. Moreover, *Eucalyptus globulus* extracts inhibit activation of transcription factors, NF- κ B and NFAT, which are known as key regulators of inflammatory cytokine production. This study suggests the potential of using *Eucalyptus globulus* extracts as alternative agents for the treatment of acne.

Key words: *Propionibacterium acnes*, *Eucalyptus globules*, inflammation, transcription factors

여드름은 농포, 낭종, 면포, 구진 및 결절을 형성하고 심하면 흉터를 남길 수 있는 만성 염증성 피부 질환으로 주로 사춘기와 젊은 연령층에서 나타난다(Korean Dermatological Association Textbook Compilation Committee, 2008). 여드름의 정확한 원인은 알려져 있지 않으나 스트레스, 유전, 외부 환경 등 다양한 요인들이 관여하는 것으로 여겨진다.

Propionibacterium acnes (*P. acnes*)는 통성 혐기성 그람 양성균이자 여드름의 주요한 원인균으로 알려져 있으며 피지를 주영양원으로 한다. 또한 *P. acnes*는 피지를 triglyceride와 free

fatty acid로 분해하며, 이때 생성된 free fatty acid는 피부에 심한 자극을 주어 모낭 벽을 파괴하고 모공주위의 세포에 염증을 일으킨다(Sohn *et al.*, 2006).

염증은 병원체의 침입이나 조직 손상으로부터 우리 몸을 보호하는 방어 기전 중 하나이지만 면역반응이 강하게 일어나면 세포 또는 조직이 공격을 받아 만성 면역 질환을 일으키는 나쁜 의미의 염증반응이 진행되며, 이 과정에는 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)과 인플라마솜(inflammasome) 등 다양한 물질이 관여한다(Lee *et al.*, 2015). 염증성 사이토카인인 IL-1 β 는 NK 세포와 T 세포의 활성화와 B 세포의 성숙에 관여하며, TNF- α 는 대식세포와 비만세포 등에서 분비되어 만성 염증과 같은 면역반응을 수행한다(Huang *et al.*, 2005).

[†]These authors contributed equally to this work.

*For correspondence. E-mail: suryeonseo@kangwon.ac.kr;
Tel.: +82-33-250-8541; Fax: +82-33-241-4627

인플라마솜은 면역세포에서 발현되는 단백질 복합체로써, 평소에는 세포 내에 존재하던 단백질들이 자극에 의해 단백질 복합체를 형성하여 활성이 일어난다. 대표적으로 NLRP1, NLRP3가 있으며 caspase-1과 결합하여 pro-IL-1 β 를 활성형으로 전환시켜 세포로부터 IL-1 β 의 분비를 유도하는 것으로 알려져 있다(Lee, 2013).

염증반응에 관여하는 것으로 알려진 NF- κ B 전사인자는 세포질에서 억제단백질인 I κ B와 결합하여 비활성형으로 존재하지만, 자극에 의해 I κ -Ba의 인산화가 진행되면서 NF- κ B로부터 떨어져 나와 분해가 일어나게 된다. 자유로워진 NF- κ B는 핵으로 이동하여 COX-2, iNOS 및 사이토카인 등의 전사를 유도한다(Chae, 2005). 또 다른 전사인자인 NFAT는 세포질에서 과인산화되어 비활성화 상태로 존재하지만, 수용체의 자극에 의해 세포질 내 칼슘 농도의 증가로 칼시뉴린이 활성화되어 NFAT의 탈인산화가 일어난다. 탈인산화된 NFAT는 활성화되어 핵으로 이동하여 T세포에서 IL-2 프로모터에 존재하는 antigen receptor response element에 결합함으로써 IL-2 및 여러 사이토카인 유전자들의 발현을 유도하게 된다(Lee et al., 2003).

염증성 여드름의 원인이 되는 *P. acnes* 증식 억제 목적의 항생제 복용은 치료 효과를 증진시킬 수는 있으나 장기 복용시 항생제 내성 증가와 같은 단점이 있어 최근에는 부작용이 없는 천연물을 이용한 치료방법의 요구가 증가하고 있다.

유칼립투스(*Eucalyptus globulus*)는 도양과에 속하며 여러 가지 감염증과 열병 치료에 사용되어 왔다. 또한 유칼립투스 오일은 감염, 화상, 상처, 염증이 있거나 칙칙하고 정체된 피부에 효과가 있고, 머리를 맑게 해주며 감정을 진정시키는 효과가 있다고 알려져 있다(Kim et al., 2011).

본 실험에서는 유칼립투스 추출물이 *P. acnes*로 인해 활성화된 Raw264.7 세포주에서 인플라마솜의 핵심단백질과 염증성 사이토카인 생성에 미치는 영향과 이러한 염증 매개 물질의 발현에 주요한 역할을 하는 전사인자들의 활성을 확인함으로써 유칼립투스 추출물의 항염증 효능을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

유칼립투스는 (주)허브마을을 통해 구입하여 사용하였다. 유칼립투스는 분쇄기(DA700-G, DAESUNG ARTLON, Paju, Korea)를 통해 분말화 한 후 사용하였다. 분쇄물의 20배의 70% 에탄올(w/v)을 첨가하고 상온 조건에서 3시간 동안 교반

기(RW20DZM.n, IKA Korea Ltd.)를 이용하여 추출하였다. 이후 제조된 추출물을 여과하여 얻어진 여액을 회전증발농축기(LABOTORA 4000eco, Heidolph Instruments GmbH&Co)를 이용하여 용매를 제거하여 분말 형태의 시료를 수득하였다. 이 분말을 영하 20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 동결건조분말은 실험 시 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma)에 용해시킨 후 사용하였다.

P. acnes 준비

여드름 유발균인 *Propionibacterium acnes* (KCTC3314)는 KCTC생물자원센터로(Korea)부터 분양 받아 사용하였다. 분양 받은 균주는 reinforced clostridial medium (Merck Millipore) 배지에 37°C, 혐기 조건으로 배양하였다. *P. acnes*의 membrane fraction을 분리하기 위해 FOCUS™ Membrane Proteins extraction kit (G Biosciences)를 사용하였다.

세포배양

Raw264.7 세포주는 ATCC에서 구입하였으며 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin과 streptomycin을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

Reporter gene assay

NF- κ B와 NFAT의 reporter gene을 Raw264.7 세포주에 transfection하고 24시간 뒤, 유칼립투스 추출물을 50 μ g/ml 처리한다. 30분 뒤 *P. acnes*의 membrane fraction을 50 μ g/ml 처리하여 6시간 동안 배양한다. 세포를 lysis한 후 luminometer를 이용하여 luciferase activity를 측정하였다.

RNA 분리 및 RT-PCR

배양한 세포에서 배양액을 제거하고 RiboEx (GeneAll) 1 ml 을 이용하여 RNA를 분리한다. M-MLV reverse transcriptase (Promega)를 이용하여 cDNA를 합성한 후 PCR을 수행한다. 사용한 primer는 다음과 같다. β -actin forward: 5'-CATGTTT GAGACCTTCAACACCCC-3', β -actin reverse: 5'-GCCATC TCTTGCTCGAAGTCTAG-3'; IL-1 β forward: 5'-ACGTGTT CTTGAGGCTGAC-3', IL-1 β reverse: 5'-CTTCTTTGGGT ATTGTTTGG-3'; IL-2 forward: 5'-CCCAAGAAGGCCACACT -3', IL-2 reverse: 5'-TGCTGATTAAGTCCCTGGGTCTTA -3'; NLRP3 forward: 5'-ATGGTATGCCAGGAGGACAG-3', NLRP3 reverse: 5'-ATGCTCCTTGACCAGTTGGA-3'; TNF- α forward: 5'-TAGCCCACGTCGTAGCAAAC-3', TNF- α reverse:

5'-GGAGGGTGACTTTCTCTGG-3'. PCR 산물을 1% agarose gel에 전기영동 후 UV를 이용하여 발현 양상을 확인하였다.

Cell viability assay

Raw264.7 세포주를 24시간 배양한 후 이들 세포를 25, 50, 100, 200, 500 µg/ml 농도의 유칼립투스 추출물이 첨가된 배양액에서 12시간 배양하였다. Trypan blue dye로 세포를 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 살아있는 세포수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당 세포수를 계산하였다.

MTT assay

Raw264.7 세포주를 24시간 배양 후 이들 세포를 25, 50, 100, 200, 500 µg/ml 농도의 유칼립투스 추출물이 첨가된 배양액에서 12시간 배양하였다. 각각의 well에 MTT stock solution (5 mg/ml)을 25 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 동안 배양한 후에 DMSO를 200 µl/well 넣어 10분간 방치하여 formazan을 용해하였다. 이후 Microplate Reader를 이용하여 흡광도 570 nm에서 측정하였다.

Western blot

Raw264.7 세포주에 유칼립투스 추출물 50 µg/ml을 30분간 전처리 한 후 50 µg/ml의 *P. ances*의 membrane fraction을 처리한다. 6시간 후 lysis buffer (20 mM Tris-Cl; pH 7.9, 150 mM NaCl, 10% glycerol, 1% Nonidet P-40, 10 mM NaF, 1 mM EGTA, 1 mM Na₃VO₄, 1 µg/ml leupeptin, 1 µg/ml aprotinin, and 0.2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride)를 이용하여 세포를 lysis한다. Cell lysates는 SDS-PAGE를 수행한 후 GAPDH (Santa Cruz Biotechnology)와 IL-1β/IL-1F2 (R&D Systems)의 항체를 이용하여 단백질 발현정도를 확인한다.

통계처리

모든 실험결과는 3회 반복 실험에 대한 평균(mean)±표준편차(SD)로 표시하였고, unpaired Student's *t*-test를 시행하여 *P* < 0.05인 경우 유의적인 것으로 판정하였다.

결 과

유칼립투스 추출물에 의한 세포독성 측정

본 연구에 앞서 염증반응 주요 조절 세포인 대식세포에 유칼립투스 추출물이 독성을 나타내는지 알아보기 위해 cell

viability assay를 수행하였다. 세포의 생존율을 측정하기 위한 실험방법으로 Trypan blue dye exclusion 방법에 의해 생존 세포수를 측정하였다. 25, 50, 100, 200, 500 µg/ml 농도의 유칼립투스 추출물을 포함한 배양액에서 마우스 대식세포주인 Raw264.7 세포주를 12시간 동안 배양한 후 세포생존율을 측정하였다. 유칼립투스 추출물을 처리한 세포의 경우 25 µg/ml의 농도에서 87%, 50 µg/ml의 농도에서 87%, 100 µg/ml의 농도에서 65.6%, 200 µg/ml의 농도에서 27.2%, 500 µg/ml의 농도에서 8.2%로 나타났다(Fig. 1). Trypan blue dye exclusion 방법에 의한 세포생존율 측정법에서는 200 µg/ml의 농도를 처리하였을 때, 세포생존율이 50% 미만으로 급격하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

MTT assay를 통한 세포생존율 측정 결과 유칼립투스 추출물은 25 µg/ml의 농도에서 72.5%, 50 µg/ml의 농도에서 50.9%, 100 µg/ml의 농도에서 18.2%, 200 µg/ml의 농도에서 18.4%, 500 µg/ml의 농도에서 5.7%로 나타났다(Fig. 2). MTT assay를

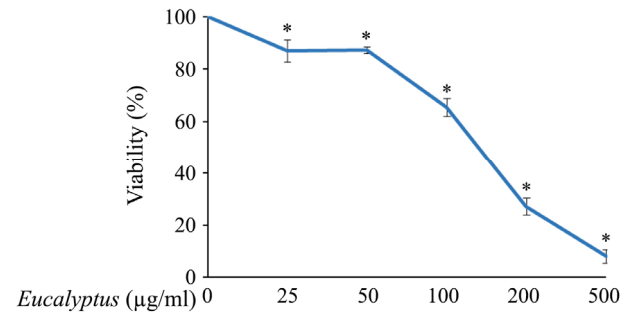


Fig. 1. Trypan blue dye exclusion measuring cytotoxicity of *Eucalyptus globulus* extract. Raw264.7 cells were treated with *E. globulus* extract for the indicated concentrations. After 12 h of incubation, the viability of cells was estimated by counting with trypan blue dye. The results are represented as the means ±SD of three independent experiments. **P* < 0.005 versus control.

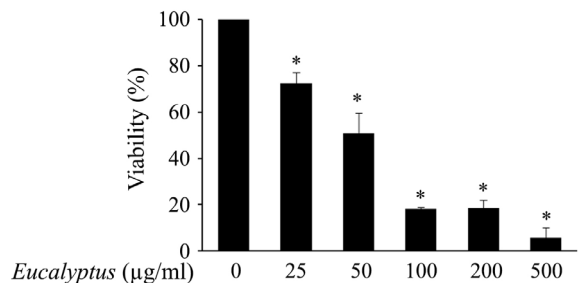


Fig. 2. MTT analysis measuring cytotoxicity of *Eucalyptus globulus* extract. Raw264.7 cells were treated with *E. globulus* extract for the indicated concentrations. After 12 h of incubation, the viability of cells was estimated by MTT assay. The results are represented as the means ± SD of three independent experiments. **P* < 0.005 versus control.

통한 세포생존율 측정에서는 유칼립투스 추출물을 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도보다 높게 처리하였을 때, 세포생존율이 50% 미만으로 급격하게 감소하였다.

두 가지 서로 다른 세포생존율 측정방법을 통한 유칼립투스 추출물의 세포독성을 평가한 결과를 토대로 유칼립투스 추출물에 의한 세포독성을 최소화하고 염증반응 억제 효능을 극대화하기 위해 세포생존율이 50% 이상을 나타내는 농도를 사용하고자 하였다. 따라서 이후의 실험에서는 유칼립투스 추출물은 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 사용하였다.

*P. acnes*가 대식세포주에서 염증성 사이토카인의 mRNA 발현을 유도

*P. acnes*가 대식세포주에서 염증을 유발할 수 있는지를 확인하기 위하여 Raw264.7 세포주에 *P. acnes*의 membrane fraction을 10, 20, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 6시간 동안 배양한 후, RT-PCR을 통해 염증성 사이토카인의 mRNA 발현량을 확인하였다. 그 결과 Raw264.7 세포주에서 염증성 사이토카인으로 알려진 TNF- α , IL-1 β , IL-2의 mRNA 발현량이 *P. acnes* 농도 의존적으로 증가함을 확인할 수 있었다(Fig. 3A). 또한 인플라마좀 복합체로 알려진 NLRP3의 발현 또한 농도 의존적으로 증가됨을 확인할 수 있었다(Fig. 3A).

NFAT와 NF- κ B는 전사인자로 염증반응과 같은 세포 자극에 의해 세포질에서 핵 내로 이동, 활성화되어 NFAT는 IL-2, NF- κ B는 IL-1 β 와 TNF- α 같은 염증성 사이토카인의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다(Liu and Malik, 2006). *P. acnes*의 처리가 이러한 염증 매개 전사인자의 활성을 증가시킬 수 있는지 확인하기 위해 Raw264.7 세포주에 NF- κ B와 NFAT-luciferase reporter vector를 각각 transfection한 후 *P. acnes*를 50 $\mu\text{g/ml}$ 처리하고 6시간 뒤 luciferase 활성 정도를 확인하였다. 그 결과 대조군과 비교하여 *P. acnes*를 처리하자 luciferase 활성이 현저히 증가됨을 확인하였다(Fig. 3B and C).

따라서 *P. acnes*로 염증이 유도된 Raw264.7 세포주에서 NFAT와 NF- κ B 전사인자들이 활성화되어 IL-1 β , IL-2, TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인 및 인플라마좀 복합체의 발현이 증가됨을 알 수 있었다.

유칼립투스 추출물에 의한 염증반응 억제 효과

*P. acnes*에 의해 유도되는 염증반응을 유칼립투스 추출물이 제어할 수 있는지 확인하기 위해 Raw264.7 세포주에 유칼립투스 추출물을 30분간 전처리 하였다. 이후 *P. acnes*의 membrane fraction을 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 6시간 뒤, 염증성 사이

토카인인 IL-1 β , IL-2, NLRP3 및 TNF- α 의 mRNA 양을 RT-PCR을 통해 확인하였다. 그 결과 유칼립투스 추출물을 전처리한 실험군에서는 *P. acnes*에 의해 증가했던 IL-1 β , IL-2, TNF- α 및 NLRP3의 mRNA 발현량이 크게 감소하는 것을 확

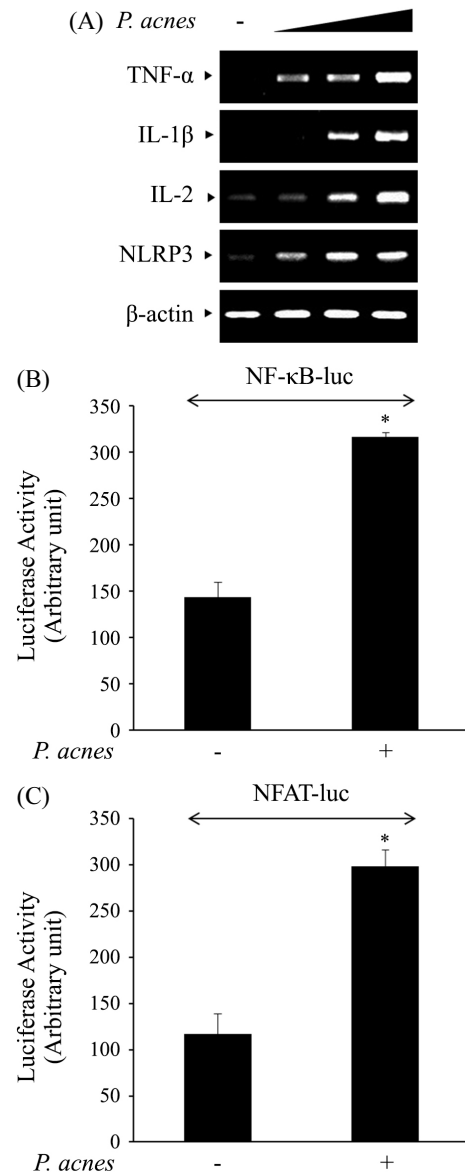


Fig. 3. *P. acnes* induce inflammatory responses in macrophages. (A) Raw264.7 cells were treated with membrane fractions of *P. acnes* (10, 20, and 50 $\mu\text{g/ml}$) for 6 h. The mRNA levels of TNF- α , IL-1 β , IL-2, NLRP3, and β -actin were measured by RT-PCR. (B and C) Raw264.7 cells were transfected with either NF- κ B or NFAT-luciferase reporter vectors. After 24 h, cells were pretreated with the indicated *Eucalyptus globulus* extract for 30 min followed by the treatment with membrane fractions of *P. acnes* (50 $\mu\text{g/ml}$) for 6 h and cell lysates were analyzed for luciferase activity. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * $P < 0.005$ versus control.

인할 수 있었다(Fig. 4A). 따라서 유칼립투스 추출물이 염증성 사이토카인의 발현량을 감소시킴으로써 *P. acnes*에 의한 염증반응을 억제할 수 있음을 확인하였다.

다음으로 *P. acnes*에 의한 염증반응에서 유칼립투스 추출물이 염증성 사이토카인의 발현량을 감소시키는 것이 NFAT와 NF- κ B의 전사활성과 관련이 있는지 확인하고자 하였다. 이를 위해 Raw264.7 세포주에 NF- κ B와 NFAT-luciferase reporter vector를 각각 transfection하였다. 24시간 뒤, 유칼립투스 추출물을 30분간 전처리한 후 *P. acnes*의 membrane fraction을 50 μ g/ml의 농도로 처리하였다. 6시간 뒤, 세포를 lysis하여

luciferase 활성 정도를 확인하였다. 그 결과 *P. acnes*에 의해 증가했던 NF- κ B와 NFAT reporter gene 활성이 유칼립투스 추출물에 의해 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4B and C).

또한, 이러한 감소 효과가 실제 단백질 발현량에 영향을 미치는지 확인하고자 하였다. Raw264.7 세포주에 유칼립투스 추출물을 30분간 전처리 하고 *P. acnes*의 membrane fraction을 50 μ g/ml의 농도로 처리하였다. 6시간 뒤 세포를 lysis하여 Western blot을 수행하여 IL-1 β 의 단백질 발현량을 확인하였다(Fig. 4D). 그 결과 *P. acnes*에 의해 증가했던 IL-1 β 의 단백질 발현량이 유칼립투스 추출물에 의해 확연히 감소하였다.

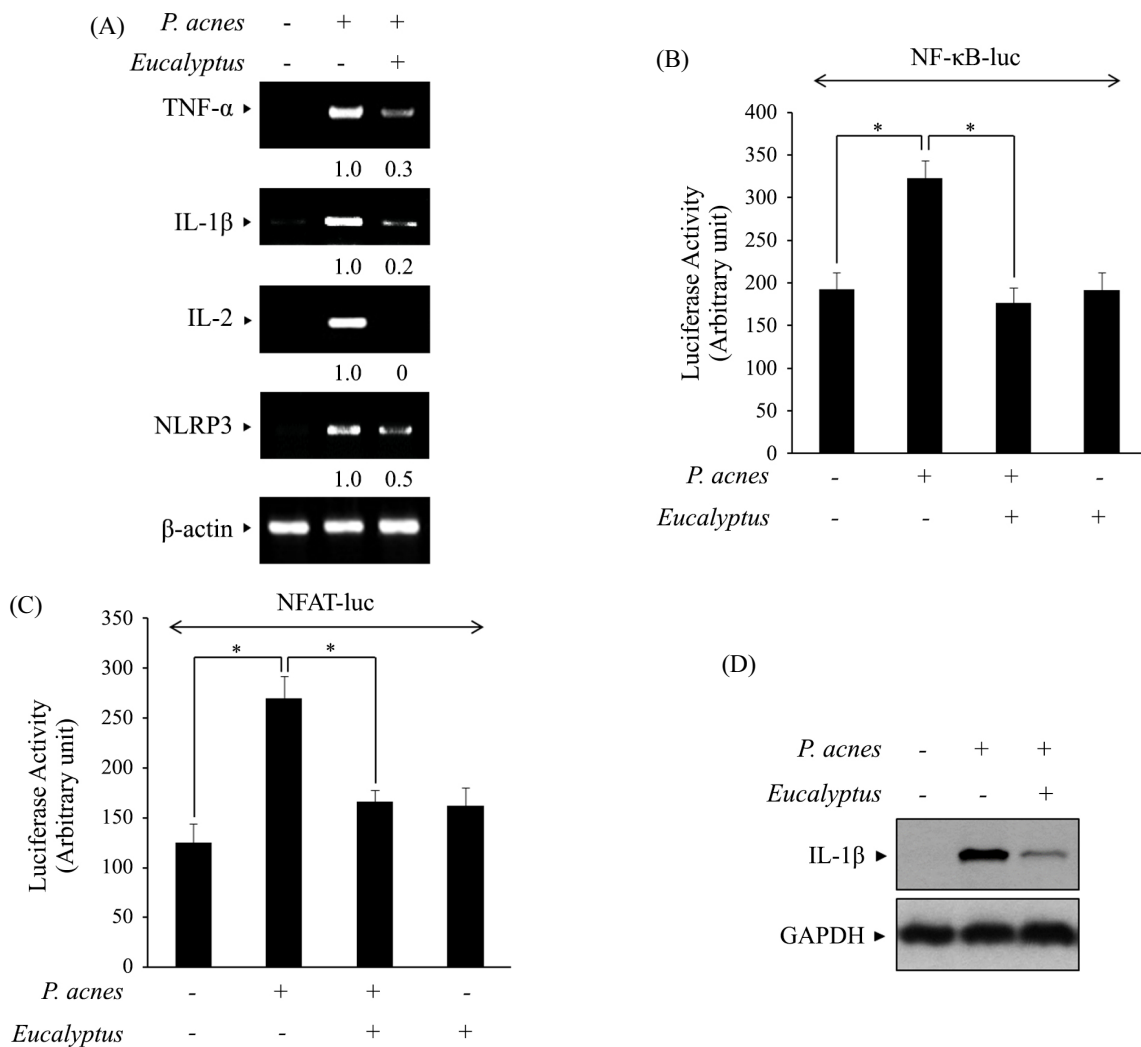


Fig. 4. *Eucalyptus globulus* extracts prevent *P. acnes*-induced inflammation signaling pathways. (A) Raw264.7 cells were pretreated with the indicated *E. globulus* extract for 30 min followed by the treatment with membrane fractions of *P. acnes* (50 μ g/ml) for 6 h. The mRNA levels of TNF- α , IL-1 β , IL-2, NLRP3, and β -actin were measured by RT-PCR. (B and C) Raw264.7 cells were transfected with either NF- κ B or NFAT-luciferase reporter vectors. After 24 h, cells were pretreated with the indicated *Eucalyptus globulus* extract for 30 min followed by the treatment with membrane fractions of *P. acnes* (50 μ g/ml) for 6 h. Cell lysates were analyzed by luciferase assay. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * P < 0.005. (D) Western blot analysis was carried out under the equivalent conditions of (A). The protein levels of IL-1 β and GAPDH were measured by anti-IL-1 β and anti-GAPDH antibodies.

이를 통해 유칼립투스 추출물이 NF- κ B와 NFAT와 같은 전사인자들의 발현을 억제시킴으로써 염증성 사이토카인의 발현을 감소시킬 수 있음을 알 수 있다.

고 찰

*P. acnes*의 세포벽 성분은 다형핵 백혈구와 단핵구에 강력한 주화성을 가져 모낭 주위로 모여들게 한다. 이 과정에서 단핵구 세포들의 염증성 사이토카인의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Antiga et al., 2015). 그 중 IL-8, IL-1 β 와 TNF- α 는 대표적인 염증성 사이토카인으로 피부 대식세포의 육아종 형성을 촉진시켜 염증성 피부질환을 심화시키는 것으로 알려져 있다(Seo and Kim, 2010). 또한 이전 연구에 의하면 사람의 단핵구 세포에 *P. acnes*를 처리하였을 때 인플라마좀 복합체가 활성화되어 IL-1 β 의 분비를 증가시킴으로써 여드름의 염증반응을 유도한다고 보고된 바 있다(Qin et al., 2014).

염증성 여드름의 경우 항생제 투여에 의해 병증이 개선될 수는 있으나 여드름 치료에 주로 이용되는 clindamycin, erythromycin, tetracycline은 장기간 사용할 경우 내성을 포함한 다양한 부작용이 나타날 수 있다(Nam et al., 2009). 이러한 항생제를 이용한 치료의 문제점을 인식하여 최근에는 천연물을 이용한 항염증제 개발에 대한 연구가 다각도로 이루어지고 있다. 기존의 연구 경향을 살펴 보면 여의금황산(Yoo and Seo, 2007), 유향(Lee and Seo, 2007) 및 전도산(Choi and Seo, 2007) 등이 여드름 유발균에 의해 발생하는 염증을 감소시킬 수 있다는 것이 보고된 바 있다. 하지만 유칼립투스 추출물을 이용하여, 특히 여드름 유발균에 의한 염증반응 억제에 관련된 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 여드름을 유도하는 원인균인 *P. acnes*를 대식세포주에 처리하였을 때 나타나는 염증성 사이토카인과 인플라마좀 복합체의 핵심단백질 유전자의 발현 양상을 확인하고 이를 억제할 수 있는 유칼립투스 추출물을 확인하였다. *P. acnes*를 대식세포주에 처리하고 유칼립투스 추출물을 처리하였을 때 IL-1 β , IL-2, TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인뿐만 아니라 인플라마좀 복합체의 핵심단백질인 NLRP3의 mRNA 발현량이 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

본 연구의 실험 결과를 종합해 보았을 때 유칼립투스 추출물은 Raw264.7 세포주의 NF- κ B와 NFAT 전사인자들의 활성을 억제함으로써 *P. acnes*에 의해 유발된 염증성 사이토카인의 발현을 감소시킨다. 따라서 여드름에 의해 유발되는 염증을 완화시키는 효능이 있을 것으로 예상된다.

이전 연구에 따르면 유칼립투스 추출물이 *P. acnes*를 포함한 다양한 균주에서 항균활성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(Ertürk, 2006; Athikomkulchai et al., 2008). 또한, 유칼립투스 오일을 비롯한 티트리 오일과 로즈마리 오일 등에 많이 함유되어 있는 성분인 1,8-cineole의 항균효과 역시 보고된 바 있다(Sadlon and Lamson, 2010). 향후 1,8-cineole이 *P. acnes*에 의해 유발되는 염증반응과 인플라마좀 활성화를 제어할 수 있는지에 대한 연구를 추가적으로 진행하여 유칼립투스 추출물의 작용 기전을 밝히는데 도움이 될 수 있을 것으로 예상된다.

유칼립투스 추출물이 염증반응의 시작 단계인 염증성 사이토카인 분비에 유의한 수준의 억제 효과가 있다는 본 연구 결과를 바탕으로 향후 유칼립투스 추출물이 염증성 여드름 완화 목적의 의약품과 화장품 등에 널리 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

여드름은 만성 염증 질환으로 주로 청소년기에 발생하는 것으로 알려져 있으나 대기오염, 약물 남용 등의 원인에 의해 아동기 및 성인기에도 나타날 수 있다고 알려져 있다. 여드름을 유발하는 정확한 원인은 밝혀져 있지 않으나 한 가지 원인보다 스트레스, 호르몬의 변화, 유전, 외부 환경 등 다양한 요인들이 복합적으로 작용한다고 여겨지고 있다.

Propionibacterium acnes (*P. acnes*)는 여드름을 유발하는 균으로 모낭 내에 상주하여 피지의 중성지방을 분해하고 유리지방산을 형성하여 모낭 내 염증을 유발한다. 따라서 피지의 생성 증가는 *P. acnes*의 생존에 좋은 영향을 주고 피부에서 염증반응을 유발하는 monocytic cell의 활성화와 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)의 증가를 유발한다. 따라서 여드름 치료를 위해서는 *P. acnes*의 증식 억제 및 염증반응을 최소화하는 것이 중요하다.

본 논문에서는 유칼립투스(*Eucalyptus globules*) 추출물이 *P. acnes*에 의한 염증반응에 나타내는 효과를 확인하고자 하였다. 유칼립투스 추출물 처리는 *P. acnes*가 유도하는 염증 매개자로 알려진 TNF- α , IL-1 β , IL-2와 인플라마좀 복합체인 NLRP3의 유전자 발현을 효과적으로 감소시키는 것을 확인하였다. 뿐만 아니라 염증성 사이토카인의 유전자 발현에 중요하다고 알려진 전사인자(transcription factors) NF- κ B와 NFAT의 활성 역시 유칼립투스 추출물을 처리하였을 때 감소하는 것을 알 수 있었다.

따라서 본 논문을 통해 유칼립투스 추출물이 *P. acnes*에 의해 초래되는 여드름의 치료 보조제로 사용될 수 있으며, 천연 추출물의 사용이 항생제 장기 복용으로 인해 유발되는 항생제 내성을 해결하는 좋은 대안이 될 것이라고 예상할 수 있다.

감사의 말

이 논문은 2014년도 강원대학교 학술연구조성비(관리번호 120140375), 2016년 산학협력선도대학(LINC) 육성사업, 2016년 산업통상자원부 생산기술사업화 지원사업(RGW16006), 연구재단(NRF-2015R1D1A1A09057991)의 지원을 받아 수행 되었음.

References

- Antiga, E., Verdelli, A., Bonciani, D., Bonciolini, V., Caproni, M., and Fabbri, P.** 2015. Acne: a new model of immune-mediated chronic inflammatory skin disease. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* **150**, 247–254.
- Athikomkulchai, S., Watthanachaiyingcharoen, R., Tunvichien, S., Vayumhasuwan, P., Karnsomkiet, P., Sae-Jong, P., and Ruangrungsi, N.** 2008. The development of anti-acne products from *Eucalyptus globulus* and *Psidium guajava* oil. *J. Health Res.* **22**, 109–113.
- Chae, S.** 2005. Function and activation of NF-kappa B in immune system. *Korean J. Otorhinolaryngol.-Head Neck Surg.* **48**, 284–288.
- Choi, K. and Seo, H.** 2007. The effects of Jeondo-san on anti-inflammation and anti-*Propionibacterium acnes*. *J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **20**, 89–101.
- Ertürk, Ö.** 2006. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia* **61**, 275–278.
- Huang, H., Patel, D.D., and Manton, K.G.** 2005. The immune system in aging: roles of cytokines, T cells and NK cells. *Front. Biosci.* **10**, 192–215.
- Kim, J., Kim, M., Choi, S., Bae, S., An, S., and Yoon, Y.** 2011. Antioxidant and antimicrobial effects of lemon and *eucalyptus* essential oils against skin floras. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **37**, 303–308.
- Korean Dermatological Association Textbook Compilation Committee.** 2008. *Dermatology*, 5th ed., pp. 446–454. Ryo Moon Gak, Seoul, Korea.
- Lee, G.** 2013. Inflammasomes, multi-cellular protein complex in myeloid cells, induce several metabolic diseases via interleukin-1 β maturation. *J. Biomed. Res.* **14**, 195–200.
- Lee, I., Dat, N.T., Cai, X., Shen, G., and Kim, Y.** 2003. Inhibitory effects of natural products against NFAT (nuclear factor of activated T cells) transcription factor. *Korean J. Pharmacogn.* **34**, 150–155.
- Lee, J.R., Kim, Y.W., Byun, S.H., Kim, S.C., and Park, S.J.** 2015. Anti-inflammatory effects of the fermentation extracts consisting of soybean, red ginseng and Citrus Unshiu Peel. *Kor. J. Herbol.* **30**, 59–65.
- Lee, S. and Seo, H.** 2007. The effects of sulfur extract on anti-inflammation and anti-*Propionibacterium acnes*. *J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **20**, 68–76.
- Liu, S.F. and Malik, A.B.** 2006. NF-kappa B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **290**, L622–L645.
- Nam, E.S., Lim, Y.H., and Park, S.W.** 2009. Antimicrobial activities of the anti-acne compounds from natural sources. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 80–84.
- Qin, M., Pirouz, A., Kim, M., Krutzik, S.R., Garbán, H.J., and Kim, J.** 2014. *Propionibacterium acnes* induces IL-1 β secretion via the NLRP3 inflammasome in human monocytes. *J. Invest. Dermatol.* **134**, 381–388.
- Sadlon, A.E. and Lamson, D.W.** 2010. Immune-modifying and antimicrobial effects of *Eucalyptus* oil and simple inhalation devices. *Altern. Med. Rev.* **15**, 33–43.
- Seo, M. and Kim, K.** 2010. Effects of *Lithospermum erythrorhizon* extracts on *P. acnes* induced cytokine gene expression in human monocytes. *J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **23**, 57–68.
- Sohn, H., Kim, Y., Kum, E., Kwon, Y., and Son, K.** 2006. Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 265–272.
- Yoo, J. and Seo, H.** 2007. The effects of Yeouigeumhwang-san on anti-inflammation and anti-*Propionibacterium acnes*. *J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* **20**, 77–88.